QUANTA Flash™ h-tTG IgA **701103**

Para uso diagnóstico *in vitro*

Uso previsto

El QUANTA Flash h-tTG IgA es un inmunoensayo por quimioluminiscencia (CIA) para la detección semicuantitativa de anticuerpos IgA anti-transglutaminasa tisular humana (h-tTG) en suero humano. La presencia de anticuerpos IgA anti-h-tTG, en combinación con resultados clínicos y otros análisis de laboratorio, puede servir de ayuda para el diagnóstico de dos enteropatías por sensibilidad al gluten: la celiaquía o enfermedad celíaca (CD) y la dermatitis herpetiforme (DH).

Resumen y explicación de la prueba

La celiaquía es una enfermedad crónica cuyas características principales son inflamación y un típico «aplanamiento» de la mucosa intestinal que provoca un síndrome de malabsorción denominado enteropatía por sensibilidad al gluten. La etiología exacta de la celiaquía es aún desconocida, pero la gliadina (la fracción soluble en alcohol del gluten del trigo) es claramente el agente tóxico.[1,2]

Inicialmente, se utilizaban una serie de biopsias intestinales para diagnosticar la enfermedad celíaca. Más recientemente, se ha propuesto el análisis serológico de anticuerpos anti-gliadina, anti-endomisio y anti-tTG para identificar a los pacientes con posible enteropatía por sensibilidad al gluten y supervisar el cumplimiento de las dietas.[3-5] La Sociedad Europea de Gastroenterología Pediátrica y Nutrición ha recomendado el uso de anticuerpos como marcadores, como los anticuerpos anti-gliadina y anti-endomisio, con el fin de reducir el número de biopsias intestinales necesarias para obtener un diagnóstico.[5]

El antígeno de endomisio ha sido identificado como la enzima tTG, que cataliza la formación de uniones covalentes entre proteínas.[6] El antígeno h-tTG se ha producido mediante tecnología recombinante y puede tener ciertas ventajas frente al antígeno de hígado de cobaya.[7,8]

La dermatitis herpetiforme es una enfermedad de la piel que, al igual que la celiaquía, está provocada por la ingestión de proteínas del trigo. La mayoría de los pacientes con DH presentan una atrofia de las vellosidades intestinales del yeyuno idéntica a la encontrada en la enfermedad celíaca, y una dieta estricta sin gluten mejora tanto las lesiones intestinales como las cutáneas.[1,2,9] Los métodos serológicos actuales, como los análisis de endomisio, gliadina nativa y tTG, presentan un rendimiento inferior cuando se utilizan para la detección de la DH, pues tienen una sensibilidad de tan solo el 60-75%[9], frente a una sensibilidad superior al 95% en el caso de la celiaquía.[3-8]

Principios del procedimiento

Se recubren con h-tTG recombinante lechos de látex paramagnético que se guardan en el cartucho de reactivos en unas condiciones que mantienen el antígeno en su estado reactivo. Cuando el cartucho de análisis está preparado para ser utilizado por primera vez, se añade una solución de tampón al tubo que contiene los lechos y estos se mezclan con el tampón. A continuación, se coloca el cartucho de reactivos en el instrumento BIO-FLASH®.

Mediante el instrumento se prediluye una muestra de suero de paciente utilizando tampón para muestras añadido a una cubeta de plástico desechable. Se combinan en una segunda cubeta y se mezclan pequeñas cantidades del suero de paciente diluido, los lechos de h-tTG y el tampón de análisis. Esta cubeta se incuba a 37 °C y, después, los lechos se magnetizan y se lavan varias veces. A continuación, se añade anticuerpo conjugado con isoluminol a la cubeta y esta se incuba a 37 °C. De nuevo, los lechos se magnetizan y se lavan repetidamente. El conjugado de isoluminol produce una reacción luminiscente al añadir a la cubeta los reactivos («iniciadores»). La luz emitida por la reacción se mide como unidades relativas de luz (RLU) mediante el sistema óptico del BIO-FLASH. El número de RLU es proporcional a la cantidad de conjugado de isoluminol ligado, que a su vez es proporcional a la cantidad de anticuerpos IgA anti-h-tTG unidos al h-tTG en los lechos.

El ensayo QUANTA Flash h-tTG IgA utiliza una curva maestra predefinida específica para cada lote que se carga en el instrumento mediante el código de barras del cartucho de reactivos. De acuerdo con los resultados del análisis de dos calibradores, se crea una curva de trabajo específica para el instrumento que se usa para calcular las unidades de quimioluminiscencia (CU) a partir de las RLU obtenidas con cada paciente.

Reactivos

1. El cartucho de reactivos del QUANTA Flash h-tTG IgA contiene los reactivos siguientes para 50 análisis:
   a. Lechos paramagnéticos recubiertos de h-tTG, conservados antes del primer uso.
   b. Tampón de análisis, de color rosa, que contiene solución salina tamponada con Tris, Tween 20, estabilizantes de proteínas y conservantes.
   c. IgA trazadora: anticuerpo anti-IgA humana etiquetada con isoluminol que contiene tampón, estabilizantes de proteínas y conservante.
   d. Tampón para muestras: solución salina tamponada con fosfato que contiene Tween 20.
2. Tampón de resuspensión, de color rosa, en un vial que contiene tampón, estabilizantes de proteínas y conservantes.

Advertencias

1. ADVERTENCIA: El tampón del ensayo contiene una sustancia química (cloranfenicol al 0,02%) que está clasificada como cancerígena por el Estado de California.
2. Se utiliza azida de sodio como conservante. La azida de sodio es una sustancia venenosa y puede resultar tóxica si se ingiere o si se absorbe a través de la piel o los ojos. La azida de sodio puede reaccionar con el plomo o el cobre de las tuberías y formar azidas metálicas potencialmente explosivas. Si utiliza las pilas de lavado para eliminar reactivos, aclare con abundante cantidad de agua para evitar la formación de azidas metálicas.
3. Utilice un equipo de protección personal adecuado cuando trabaje con los reactivos suministrados.
4. Los vertidos de reactivos deben limpiarse inmediatamente. Cumpla todas las normas estatales y locales sobre protección del medio ambiente para la eliminación de residuos.

Precauciones

1. Este producto está destinado a uso diagnóstico *in vitro*.
2. Este ensayo solo debe utilizarse con el instrumento BIO-FLASH.
3. Se recomienda seguir estrictamente el protocolo de resuspensión indicado.
4. Una vez abierto, el cartucho de reactivos debe almacenarse en la bandeja de reactivos del instrumento. La colocación del cartucho de reactivos en el instrumento por primera vez debe realizarse con todo cuidado para no verter los reactivos.
5. Puede producirse contaminación química de los reactivos como consecuencia de un lavado o aclarado inadecuados del instrumento. Los residuos de sustancias químicas habituales en los laboratorios, como formalina, lejía, etanol o detergente, pueden interferir en el análisis. Asegúrese de limpiar siempre el instrumento siguiendo el procedimiento recomendado, que está indicado el manual del usuario del BIO-FLASH.

Condiciones de almacenamiento

1. Guarde los cartuchos de reactivos no abiertos y el tampón de resuspensión a 2-8 °C. No los congele. Los reactivos permanecen estables hasta la fecha de caducidad si se almacenan y manipulan como está indicado.
2. Los cartuchos de reactivos abiertos deben guardarse cargados en el instrumento y permanecen estables durante 20 días; tras este período, deben desecharse. El software BIO-FLASH supervisa las fechas de caducidad de los cartuchos cargados, así como las de los lotes de cartuchos de reactivos.

Recogida de muestras

Este procedimiento debe realizarse con una muestra de suero. No deben utilizarse muestras que estén contaminadas con microorganismos, que hayan recibido un tratamiento a base de calor o que contengan partículas visibles. No debe utilizarse suero muy hemolizado ni suero ictérico.
Tras la recogida, el suero debe separarse del coágulo. El documento H18-A3 del CLSI recomienda las siguientes condiciones de almacenamiento de muestras: 1) No guarde las muestras a temperatura ambiente por más de 8 horas. 2) Si el análisis no se efectúa en un plazo de 8 horas, refrigere las muestras a 2-8 °C. 3) Si el análisis no va a realizarse en un plazo de 48 horas o si debe preparar las muestras para enviarlas, congélelas a una temperatura de –20 °C o inferior. Las muestras congeladas deben mezclarse bien después de descongelarse y antes del análisis.

Procedimiento

Materiales suministrados

1 Cartucho de reactivos para el QUANTA Flash h-tTG IgA
1 Tampón de resuspensión de 3 mL
1 Pipeta de transferencia

Materiales adicionales necesarios no suministrados

Instrumento BIO-FLASH con ordenador para manejarlo
Líquido de lavado del sistema BIO-FLASH (número de componente: 3000-8205)
Iniciadores BIO-FLASH (número de componente: 3000-8204)
Cubetas BIO-FLASH (número de componente: 3000-8206)
Calibradores QUANTA Flash h-tTG IgA Calibrators (número de componente: 701101)
Controles QUANTA Flash h-tTG IgA Controls (número de componente: 701102)

Uso del analizador por quimioluminiscencia BIO-FLASH

1. Consulte el manual del usuario suministrado junto con el sistema BIO-FLASH para obtener instrucciones de funcionamiento detalladas sobre el analizador por quimioluminiscencia BIO-FLASH y el software BIO-FLASH. Para obtener más información o solucionar problemas relativos al ensayo, póngase en contacto con el servicio técnico de INOVA Diagnostics, Inc., en la dirección o número de teléfono indicados al final de estas instrucciones de uso.
2. Para vaciar el recipiente de residuos sólidos, abra el cajón de residuos. Extraiga el recipiente de residuos sólidos y tire el residuo sólido no peligroso (las cubetas usadas). Coloque el recipiente de residuos sólidos en su lugar, cierre el cajón de residuos y haga clic en **Sí** en la ventana **Vaciar cajón de residuos**.
3. Para sustituir los iniciadores, haga clic en el botón **Inventario de volúmenes F9**, situado en la parte superior derecha.
    a. En la pantalla **Inventario – Volúmenes**, haga clic en el botón **Iniciadores** situado a la izquierda. Se abrirá la ventana **Añadir iniciadores – Retirar botellas viejas.**
    b. Abra y retire el cajón de residuos del instrumento BIO-FLASH. Tire todas las cubetas del cajón de residuos secos. Haga clic en **Sí** en la ventana **Vaciar cajón de residuos**. Retire las botellas del iniciador de sus soportes y haga clic en el botón **Siguiente**. Desenrosque las botellas viejas del iniciador de sus tapones y sustitúyalas por nuevos iniciadores. Realice la operación botella a botella y respete el código de color de los tapones (blanco-blanco, rojo-rojo).
    c. Siga las instrucciones de la ventana que se abrirá, **Añadir iniciadores – Añadir botella del iniciador 2.** Una vez aceptado el código de barras, coloque el iniciador 2 en el soporte de color blanco. Haga clic en **Siguiente**.
    d. Siga las instrucciones de la ventana **Añadir iniciadores – Añadir botella del iniciador 1.** Una vez aceptado el código de barras, coloque el iniciador 1 en el soporte de color rojo. Haga clic en **Finalizar**. Coloque el cajón de residuos en su lugar y ciérrelo.

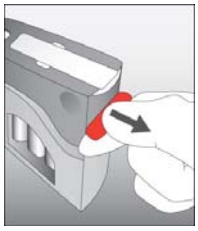
4. Para sustituir el recipiente de líquido de lavado del sistema, haga clic en el botón **Inventario de volúmenes F9**, en la esquina superior derecha. En la pantalla **Inventario – Volúmenes**, haga clic en el botón **Lavado del sistema.** En la ventana que se abrirá, **Añadir líquido de lavado – Retirar botellas**, haga clic en **Siguiente.** Siga las instrucciones de la ventana que aparecerá, **Añadir líquido de lavado – Añadir botella**. Una vez aceptado el código de barras, haga clic en **Finalizar**, si es necesario.
5. Para vaciar el recipiente de residuos líquidos, en la pantalla **Inventario – Volúmenes** haga clic en el botón **Residuo líquido**. Extraiga el residuo líquido y tírelo. Haga clic en **Siguiente**. Una vez sustituida la botella vacía, haga clic en **Finalizar**.

Método

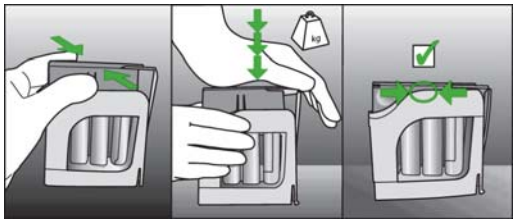
Preparación del cartucho de reactivos

La primera vez que se utilice el cartucho de reactivos, deben perforarse los sellos de almacenamiento de los tubos de reactivos, y los lechos recubiertos de h-tTG deben mezclarse con tampón de resuspensión.

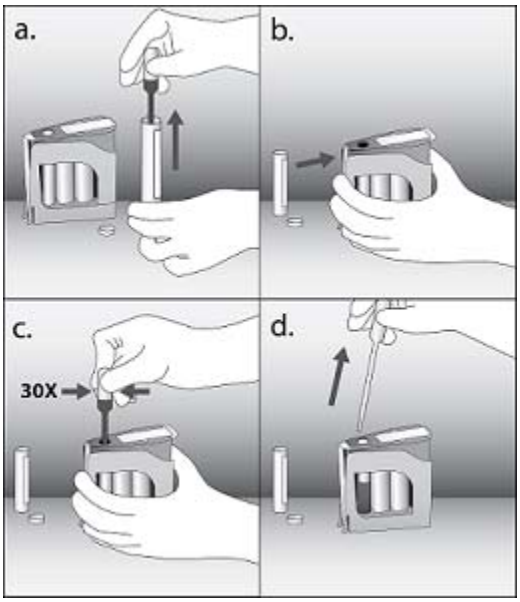
1. Coloque el cartucho de reactivos en una superficie sólida. Con una mano, sostenga el cartucho de reactivos en su lugar. Con la otra, agarre con fuerza la anilla roja de la parte posterior del cartucho de reactivos y tire de ella completamente.



2. Pulse las dos pestañas laterales del tapón de perforación (parte gris) y aplique presión a la parte superior del cartucho de reactivos hasta que descienda y alcance un tope. Las pestañas deberían quedar ocultas.



3. Vuelva a suspender los reactivos del kit:
    1. Destape el vial de tampón de resuspensión y recoja fluido en la pipeta de transferencia suministrada. Todo el contenido del vial se utilizará.
    2. Deslice la puerta de la tapa del cartucho de reactivos hasta la posición abierta presionando suavemente el lateral estrecho del cartucho de reactivos y manténgala en esta posición. Transfiera analíticamente todo el contenido del vial al tubo de reactivo de lechos a través del único orificio de la parte superior del cartucho de reactivos.
    3. Mezcle el contenido del tubo de reactivo de lechos aspirando y dispensando el líquido al menos 30 veces. Si se observan masas visibles de lechos, continúe mezclando la solución 30 veces más.
    4. Asegúrese de dispensar todo el líquido antes de retirar la pipeta del tubo y desecharla.



4. Retire el adhesivo de la parte superior del cartucho de reactivos para descubrir los otros tres orificios.

5. Coloque el cartucho de reactivos en cualquier ranura abierta de la bandeja de reactivos del instrumento BIO-FLASH.

Calibración del ensayo

1. Cada nuevo lote de cartucho de reactivos debe calibrarse antes del primer uso. El software no permitirá usar un lote nuevo hasta que se calibre.
2. Consulte el apartado **Calibradores QUANTA Flash™ h-tTG IgA (701101)** de este documento para obtener instrucciones de uso detalladas sobre cómo calibrar el cartucho de reactivos.
3. Una vez validada la calibración, el lote de cartuchos de reactivos en el que se ha efectuado la calibración estará preparado para utilizarse.

Programación y análisis de muestras

1. Pulse el botón **Lista de trabajo** de la parte superior de la pantalla y seleccione la pestaña **Gradillas** de la parte inferior.
2. Seleccione la gradilla de muestras que se utilizará marcándola en la pantalla o escaneando su código de barras con el lector manual de códigos de barras. Escanee o escriba el nombre de la muestra, indique el tipo de muestra, elija el tipo de recipiente (tubo/copa) y seleccione «IgA h-tTG» en el panel del ensayo. Repita estos pasos para todas las muestras.
3. Cargue las muestras en las posiciones seleccionadas de la gradilla de muestras y coloque la gradilla en la bandeja de muestras del instrumento.
4. Cuando todos los materiales necesarios estén cargados en el instrumento, el icono de inicio pasará a estar disponible, en color verde, en la parte superior de la pantalla. Pulse el icono de inicio para comenzar la sesión de análisis.

Control de calidad

Los controles QUANTA Flash h-tTG IgA Controls (vendidos por separado; número de producto de INOVA: 701102), contienen los controles positivos y negativos del QUANTA Flash h-tTG IgA. Consulte el apartado **Controles QUANTA Flash™ h-tTG IgA (701102)** de este documento para obtener instrucciones de uso detalladas sobre cómo introducir el valor de la unidad y la desviación estándar de cada control y cómo analizar los controles. Se recomienda analizar los controles una vez los días en que se utilice el ensayo.

Cálculo de los resultados

Para cada nuevo lote de Flash QUANTA h-tTG IgA INOVA se genera en una curva maestra de cinco puntos. Esta curva logística de cuatro parámetros se codifica mediante el código de barras de cada cartucho de reactivos. Tras calibrar un cartucho de reactivos, se utilizará un curva de trabajo específica del dispositivo para convertir las RLU a CU. La reactividad del anticuerpo IgA ante la h-tTG puede entonces clasificarse según la tabla siguiente.

Reactividad	**CU**
Negativo	< 20
Positivo débil	20-30
Positivo	> 30

La reactividad expresada en CU está directamente relacionada con la titulación del autoanticuerpo en las muestras de paciente. Los aumentos y disminuciones de las concentraciones de anticuerpos de pacientes se reflejarán en un correspondiente aumento o disminución de las CU, que es proporcional a la cantidad de anticuerpo.
El rango notificable del ensayo va de 1,9 CU a 4.965,5 CU. Si el resultado de un paciente es inferior a 1,9 CU, el sistema BIO-FLASH indicará «< 1,9 CU». Dado que este valor es inferior a 20 CU, se considera un resultado negativo. Si el resultado de un paciente es superior a 4.965,5 CU, el sistema BIO-FLASH indicará «> 4.965,5 CU». Este valor se considera un resultado positivo. El software BIO-FLASH dispone de una opción denominada «Reanálisis automático». Si esta opción está seleccionada, el instrumento volverá a analizar de manera automática cualquier muestra con un resultado superior a 4.965,5 CU diluyéndola nuevamente según un factor de 10 y calculará las CU utilizando este factor de dilución adicional.

Interpretación de los resultados

El ensayo QUANTA Flash permite detectar pequeñas diferencias en la población de pacientes. Cada laboratorio debe determinar su propio rango normal basándose en los controles y la población de pacientes que utilice, de acuerdo con los procedimientos específicos que establezca.
Es recomendable que los resultados notificados por el laboratorio incluyan esta información: «Los siguientes resultados se han obtenido mediante el inmunoensayo por quimioluminiscencia QUANTA FLASH h-tTG IgA de INOVA. Los valores obtenidos con métodos de ensayo de otros fabricantes pueden no ser intercambiables. La magnitud de los niveles de anticuerpo IgA obtenidos no siempre puede correlacionarse con un título de punto final».

Limitaciones del procedimiento

1. No todos los pacientes con celiaquía o dermatitis herpetiforme presentan un resultado positivo con respecto a los autoanticuerpos IgA anti-h-tTG. Además, un resultado negativo en la IgA anti-h-tTG en un paciente no sometido a tratamiento puede explicarse a menudo por una deficiencia selectiva de IgA, que es relativamente frecuente en la celiaquía. INOVA ofrece kits para analizar estos pacientes QUANTA Flash h-tTG IgG.
2. Los resultados de este análisis deben utilizarse junto con resultados clínicos y otros análisis serológicos.
3. Si la resuspensión de los lechos recubiertos de h-tTG no se efectúa de un modo adecuado, pueden obtenerse resultados inferiores en comparación con los análisis que han tenido una resuspensión adecuada.
4. Las características de rendimiento de este ensayo no se han establecido para sustratos distintos del suero.

Valores esperados

El límite de detección del ensayo se ha determinado analizando 446 muestras caracterizadas clínicamente (extracciones simples en pacientes con un diagnóstico claro de celiaquía o ausencia de celiaquía y que no seguían ninguna dieta sin gluten). Estas muestras (117 clínicamente positivas y 329 clínicamente negativas) se han utilizado para ajustar el límite de detección a 20 CU a fin de optimizar la sensibilidad y especificidad en los valores 92,3% y 98,2%, respectivamente, en este grupo de preparación del análisis.

Comparación de métodos con un ensayo comercializado con el mismo fin

Las muestras usadas en la comparación de métodos fueron las de los estudios de validación clínica (pacientes con celiaquía, sin celiaquía y con dermatitis herpetiforme) que se encontraban dentro del rango notificable del ensayo. Dichas muestras se analizaron mediante el QUANTA Flash IgA h-tTG y un ELISA destinado al mismo fin.

Comparación de métodos (N = 140)		ELISA h-tTG IgA			Concordancia (%) (intervalo de confianza: 95%)
		Positivo	Negativo	Total	
CIA: QUANTA Flash h-tTG IgA	Positivo	69	2*	71	Conc. pos. = 100% (94,7-100%)
	Negativo	0	69	69	Conc. neg. = 97,2% (90,3-99,2%)
	Total	69	71	140	Conc. total = 99,1%
* Una muestra procedía de una donante de sangre con un resultado altamente negativo en el ELISA h-tTG IgA y la otra pertenecía a un paciente con dermatitis herpetiforme.					

Sensibilidad y especificidad clínicas

El estudio de validación clínica contó con 200 donantes de sangre normales, 71 controles sin celiaquía, 77 muestras procedentes de un seminario sobre la tTG (27 controles con celiaquía y 50 sin celiaquía) y 23 muestras celíacas adicionales extraídas de la biblioteca de sueros de INOVA. Estas muestras se analizaron mediante el kit QUANTA Flash h-tTG IgA. Los resultados de este análisis son los siguientes:

Datos clínicos (N = 371)		Diagnóstico			Sensibilidad y especificidad (intervalo de confianza: 95%)
		CD	Sin CD	Total	
CIA: QUANTA Flash h-tTG IgA	Positivo	47	6*	53	Sensibilidad = 94,0% (83,5-98,7%)
	Negativo	3**	315	318	Especificidad = 98,1% (96,0-99,3%)
	Total	50	321	371	
* Muestras procedentes de 4 donantes de sangre (3 de ellos positivos en el ELISA) y de 2 pacientes positivos a los anticuerpos de *H. pylori* y la tiroglobulina, respectivamente. ** Las 3 muestras fueron negativas en el ELISA h-tTG IgA.					

La tabla siguiente muestra los resultados de 25 pacientes con dermatitis herpetiforme.

Dermatitis herpetiforme (N = 25)		Diagnóstico			Análisis (intervalo de confianza: 95%)
		DH	Sin DH	Total	
CIA: QUANTA Flash™ h-tTG IgA	Positivo	20	0	20	Sensibilidad = 80,0% (59,3-93,2%)
	Negativo	5*	0	5	
	Total	25	0	25	
* Las 5 muestras también fueron negativas en el ELISA h-tTG IgA.					

Precisión y reproducibilidad

La precisión del ensayo QUANTA Flash h-tTG IgA se ha evaluado analizando 7 pacientes según el documento EP5-A2 del CLSI; la tabla siguiente resume los datos obtenidos:

			Intraensayo		Interensayo		Interdía		Total	
Muestra	N	Media (CU)	DE	CV	DE	CV	DE	CV	DE	CV
Pac. 1	100	8,7	0,3	**3,5%**	0,2	**2,5%**	0,0	**0,0%**	0,3	**4,0%**
Pac. 2	100	22,9	0,6	**2,6%**	0,7	**3,0%**	0,3	**1,3%**	1,0	**4,2%**
Pac. 3	100	25,1	0,5	**2,2%**	0,8	**3,2%**	0,5	**1,8%**	1,1	**4,2%**
Pac. 4	100	40,5	1,2	**2,9%**	1,5	**3,6%**	0,0	**0,0%**	1,8	**4,5%**
Pac. 5	100	69,6	1,5	**2,2%**	2,5	**3,6%**	1,0	**1,4%**	3,1	**4,4%**
Pac. 6	100	342,1	10,6	**3,1%**	9,9	**2,9%**	4,6	**1,3%**	15,2	**4,4%**
Pac. 8	84	3.476,1	224,3	**6,5%**	277,4	**8,0%**	171,6	**4,9%**	395,8	**11,4%**

Límites de detección; rangos lineales y notificables

El límite inferior de detección del ensayo, de acuerdo con el documento EP17-A del CLSI, es de 465 RLU, aproximadamente, lo que equivale a 0,3 CU. El límite superior de detección aproximado es de 1.000.000 RLU. El rango notificable completo, que va de 1,9 CU a 4.965,5 CU, es lineal. Se ha realizado un estudio de linealidad siguiendo el documento EP6-A del CLSI y los datos obtenidos son los siguientes:

Muestra	Rango de análisis (CU)	Pendiente (IC: 95%)	Corte en eje Y (IC: 95%)	R^2
1	1,9-45,4	1,0 (0,95-1,05)	0,93 (–0,26-2,2)	1,000
2	2,8-118,3	1,03 (0,99-1,06)	0,68 (–1,38-2,7)	1,000
3	3,0-141,3	0,99 (0,95-1,02)	1,05 (–1,46-3,56)	1,000
4	17,6-724,7	1,02 (0,98-1,06)	7,81 (–7,25-22,87)	1,000
5	2,2-2.699,0	1,05 (1,0-1,09)	31,18 (–18,39-80,76)	1,000
6	10,0-5.428,0	0,92 (0,86-0,98)	–100,9 (–267,2-65,5)	0,990

QUANTA Flash™ h-tTG IgA **701101**
Calibradores

Para uso diagnóstico *in vitro*

Uso previsto

Los calibradores QUANTA Flash h-tTG IgA Calibrators están destinados a utilizarse con el inmunoensayo por quimioluminiscencia (CIA) QUANTA Flash h-tTG IgA en el instrumento BIO-FLASH. Cada calibrador establece un punto de referencia para la curva de trabajo utilizada en la determinación de los valores de las unidades de quimioluminiscencia (CU) para la medición de anticuerpos IgA anti-h-tTG en suero.

Resumen y Principios del Procedimiento

El QUANTA Flash h-tTG IgA emplea una curva maestra predefinida específica de cada lote que se guarda en el código de barras del cartucho de reactivos. Los calibradores QUANTA Flash h-tTG IgA Calibrators están diseñados para generar una curva de trabajo específica para el instrumento a partir de los parámetros de la curva maestra, con un punto de decisión basado en las características operativas y en la evaluación clínica del QUANTA Flash h-tTG IgA CIA. Los calibradores se analizan en varios instrumentos con diversos lotes de reactivos antes de efectuar la asignación de valores.

Reactivos

1. QUANTA Flash h-tTG IgA Calibrator 1: Dos (2) tubos etiquetados mediante código de barras con tampón que contiene anticuerpos IgA de suero humano contra la h-tTG, prediluido, preparado para ser utilizado y de 0,3 mL de volumen (de color rojo, con tampón, estabilizantes de proteínas y conservantes).
2. QUANTA Flash h-tTG IgA Calibrator 2: Dos (2) tubos etiquetados mediante código de barras con tampón que contiene anticuerpos IgA de suero humano contra la h-tTG, prediluido, preparado para ser utilizado y de 0,3 mL de volumen (de color rojo, con tampón, estabilizantes de proteínas y conservantes).

Advertencias

1. ADVERTENCIA: Los calibradores contienen una sustancia química (cloranfenicol al 0,02%) que está clasificada como cancerígena por el Estado de California.
2. Se utiliza azida de sodio como conservante. La azida de sodio es una sustancia venenosa y puede resultar tóxica si se ingiere o si se absorbe a través de la piel o los ojos. La azida de sodio puede reaccionar con el plomo o el cobre de las tuberías y formar azidas metálicas potencialmente explosivas. Si utiliza las pilas de lavado para eliminar reactivos, aclare con abundante cantidad de agua para evitar la formación de azidas metálicas.
3. Todo el material de origen humano usado en la preparación de los calibradores para este producto ha sido analizado y ha producido un resultado negativo con respecto a la presencia de anticuerpos del VIH, el HBsAg y el VHC, según métodos aprobados por la FDA. Sin embargo, ningún método de análisis puede ofrecer plenas garantías de la ausencia del VIH, el VHB, el VHC u otros agentes infecciosos. Por ello, los calibradores QUANTA Flash h-tTG IgA Calibrators deben manipularse como si se tratara de material potencialmente infeccioso.[10]
4. Utilice un equipo de protección personal adecuado cuando trabaje con los reactivos suministrados.
5. Los vertidos de reactivos deben limpiarse inmediatamente. Cumpla todas las normas estatales y locales sobre protección del medio ambiente para la eliminación de residuos.

Precauciones

1. Este producto está destinado a uso diagnóstico *in vitro*.
2. Los calibradores QUANTA Flash h-tTG IgA Calibrators están destinados a utilizarse con el ensayo QUANTA Flash h-tTG IgA.
3. No transfiera los reactivos de los calibradores a tubos secundarios. Los códigos de barras de los tubos son utilizados por el instrumento para ajustar los calibradores al tipo de ensayo adecuado.
4. Los tubos de los calibradores, una vez abiertos, pueden utilizarse durante un máximo de 8 horas o 4 calibraciones; transcurrido este tiempo, los reactivos deben desecharse.
5. Puede producirse contaminación química de los reactivos como consecuencia de un lavado o aclarado inadecuados del instrumento. Los residuos de sustancias químicas habituales en los laboratorios, como formalina, lejía, etanol o detergente, pueden interferir en el análisis. Asegúrese de limpiar siempre el instrumento según el procedimiento recomendado, que está indicado el manual del usuario del BIO-FLASH.

Condiciones de almacenamiento

1. Guarde los calibradores no abiertos a 2-8 °C. No los congele. Los reactivos permanecen estables hasta la fecha de caducidad si se almacenan y manipulan como está indicado.
2. Los calibradores abiertos deben desecharse al cabo de 8 horas.

Procedimiento

1. Cada nuevo lote de cartucho de reactivos debe calibrarse antes del primer uso. El software no permitirá usar un lote nuevo hasta que se calibre.
2. Cada calibrador debe mezclarse suavemente antes de utilizarlo para garantizar su homogeneidad. Evite la formación de espuma, ya que las burbujas pueden interferir en la detección del nivel de líquido de los instrumentos. Destape los dos tubos del calibrador y colóquelos en una gradilla de muestras, con los códigos de barras orientados hacia delante a través de las aberturas de la gradilla. Coloque la gradilla de muestras en la bandeja de muestras del instrumento BIO-FLASH y cierre la puerta. El instrumento leerá los códigos de barras de los tubos del calibrador e identificará el cartucho de reactivos adecuado. Consulte el manual del usuario suministrado con el sistema BIO-FLASH para obtener instrucciones de funcionamiento detalladas sobre el analizador por quimioluminiscencia BIO-FLASH y el software BIO-FLASH.
3. El instrumento analizará cada calibrador por triplicado. Una vez analizados los calibradores, el software solicitará la validación de la calibración. En la pantalla **Resumen del instrumento**, haga clic en botón **Seleccionar más opciones – Ctrl-M (▼**), señalado con una flecha. Seleccione **Calibración Ctrl-F3.** En la ventana **Calibración**, marque el ensayo deseado y haga clic en **Detalles**.
4. En la ventana **Detalles de calibración** que se abrirá, seleccione la calibración que acaba de efectuar. La curva maestra se visualizará como una línea discontinua y la nueva curva maestra, como una línea continua. Si los resultados de la calibración son válidos, en la parte inferior izquierda de la pantalla aparecerá un botón de validación. Haga clic en el botón **Validar calibración**.
5. Una vez validada la calibración, el lote de cartuchos de reactivos en el que se ha efectuado la calibración estará preparado para utilizarse. Se recomienda analizar los controles QUANTA Flash h-tTG IgA Controls (vendidos por separado; número de producto: 701102) tras calibrar un lote de cartuchos de reactivos.

Trazabilidad

Actualmente, no existe ningún estándar internacional reconocido para la medición de anticuerpos IgA contra la transglutaminasa tisular humana.

Limitaciones

Estos calibradores están diseñados para realizar 4 calibraciones. El tiempo máximo durante el que los tubos del calibrador pueden permanecer destapados una vez cargados en el instrumento es 8 horas. Si los calibradores destapados permanecen en el instrumento por más de 8 horas, deben desecharse. Si se utilizan los mismos tubos de calibrador para más de 4 calibraciones y/o durante más de 8 horas, es posible que la calibración del ensayo sea incorrecta, lo que producirá resultados erróneos.

QUANTA Flash™ h-tTG IgA **701102** Controles

Para uso diagnóstico *in vitro*

Uso previsto

Los controles QUANTA Flash h-tTG IgA Controls están destinados al control de calidad de los análisis efectuados mediante el kit de inmunoensayo por quimioluminiscencia (CIA) QUANTA Flash h-tTG IgA en un instrumento BIO-FLASH.

Resumen y Principios del Procedimiento

Los controles QUANTA Flash h-tTG IgA Controls están constituidos por un control negativo y un control positivo. Cada uno de ellos contiene una cantidad diferente de anticuerpos IgA anti-h-tTG. El control negativo está diseñado para evaluar la precisión y la exactitud del ensayo a niveles muy bajos de anticuerpos. El control positivo está diseñado para evaluar la precisión y la exactitud del ensayo a niveles de anticuerpos de moderados a altos.

Reactivos

1. QUANTA Flash h-tTG IgA Negative Control: Dos (2) tubos etiquetados mediante código de barras con taºmpón que contiene anticuerpos IgA de suero humano contra la h-tTG, prediluido, preparado para ser utilizado y de 0,5 mL de volumen (con tampón, estabilizantes de proteínas y conservantes).
2. QUANTA Flash h-tTG IgA Positive Control: Dos (2) tubos etiquetados mediante código de barras con tampón que contiene anticuerpos IgA de suero humano contra la h-tTG, prediluido, preparado para ser utilizado y de 0,5 mL de volumen (con tampón, estabilizantes de proteínas y conservantes).

Advertencias

1. ADVERTENCIA: Los controles contienen una sustancia química (cloranfenicol al 0,02%) que está clasificada como cancerígena por el Estado de California.
2. Se utiliza azida de sodio como conservante. La azida de sodio es una sustancia venenosa y puede resultar tóxica si se ingiere o si se absorbe a través de la piel o los ojos. La azida de sodio puede reaccionar con el plomo o el cobre de las tuberías y formar azidas metálicas potencialmente explosivas. Si utiliza las pilas de lavado para eliminar reactivos, aclare con abundante cantidad de agua para evitar la formación de azidas metálicas.
3. Todo el material de origen humano usado en la preparación de los controles para este producto ha sido analizado y ha producido un resultado negativo con respecto a la presencia de anticuerpos del VIH, el HBsAg y el VHC, según métodos aprobados por la FDA. Sin embargo, ningún método de análisis puede ofrecer plenas garantías de la ausencia del VIH, el VHB, el VHC u otros agentes infecciosos. Por ello, los controles QUANTA Flash h-tTG IgA Controls deben manipularse como si se tratara de material potencialmente infeccioso.[10]
4. Utilice un equipo de protección personal adecuado cuando trabaje con los reactivos suministrados.
5. Los vertidos de reactivos deben limpiarse inmediatamente. Cumpla todas las normas estatales y locales sobre protección del medio ambiente para la eliminación de residuos.

Precauciones

1. Este producto está destinado a uso diagnóstico *in vitro*.
2. Los controles QUANTA Flash h-tTG IgA Controls están destinados a utilizarse con el ensayo QUANTA Flash h-tTG IgA.

3. No transfiera los reactivos de los controles a tubos secundarios. Los códigos de barras de los tubos son utilizados por el instrumento para identificar al control.
4. Cada tubo de control, una vez abierto, es válido para 15 usos y puede permanecer como máximo **10 minutos** en el instrumento **en cada uso**.
5. Puede producirse contaminación química de los reactivos como consecuencia de un lavado o aclarado inadecuados del instrumento. Los residuos de sustancias químicas habituales en los laboratorios, como formalina, lejía, etanol o detergente, pueden interferir en el análisis. Asegúrese de limpiar siempre el instrumento según el procedimiento recomendado, que está indicado el manual del usuario del BIO-FLASH.

Condiciones de almacenamiento

1. Guarde los controles no abiertos a 2-8 °C. No los congele. Los reactivos permanecen estables hasta la fecha de caducidad si se almacenan y manipulan como está indicado.
2. Los controles abiertos son válidos para 15 usos y pueden permanecer como máximo **10 minutos** en el instrumento en cada uso. Si se supera cualquiera de estos límites, el control debe desecharse y debe utilizarse un nuevo control.

Procedimiento – Nuevo lote

1. Antes de utilizar un nuevo lote de controles QUANTA Flash h-tTG IgA Controls por primera vez, deben introducirse en el software el nombre, el lote, la caducidad, el valor (o dosis) y la DE objetivo.
2. En la pantalla **Resumen del instrumento**, haga clic en botón **Seleccionar más opciones – Ctrl-M (▼)**, señalado con una flecha. Seleccione **QC Ctrl-F2**. Marque el ensayo «IgA tTG» en la columna de la izquierda. A continuación, seleccione el material de control apropiado en la derecha («TTGAN» para el control negativo o bien «TTGAP» para el control positivo). Haga clic en el botón **Nuevo QC**.
3. Cada grupo de control incluye una hoja de datos específica para cada lote. Introduzca la información de esta hoja de datos en el software. Dicha información debe comprender el nombre, el número de lote, la caducidad, la dosis objetivo y la DE objetivo. Haga clic en **Guardar**. Realice este proceso para ambos controles.
4. Se recomienda utilizar una vez los controles QUANTA Flash h-tTG IgA Controls los días en que se realice el ensayo.
5. Cada control debe mezclarse suavemente antes de utilizarlo para garantizar su homogeneidad. Evite la formación de espuma, ya que las burbujas pueden interferir en la detección del nivel de líquido de los instrumentos. Destape los dos tubos del control y colóquelos en una gradilla de muestras, con los códigos de barras orientados hacia delante a través de las aberturas de la gradilla. Coloque la gradilla de muestras en la bandeja de muestras del instrumento BIO-FLASH y cierre la puerta. El instrumento leerá los códigos de barras de los tubos del control e identificará el cartucho de reactivos adecuado. Consulte el manual del usuario suministrado con el sistema BIO-FLASH para obtener instrucciones de funcionamiento detalladas sobre el analizador por quimioluminiscencia BIO-FLASH y el software BIO-FLASH.

Trazabilidad

Actualmente, no existe ningún estándar internacional reconocido para la medición de anticuerpos IgA contra la transglutaminasa tisular humana.

Limitaciones

Estos controles están diseñados para 15 usos. La etiqueta de cada tubo de control posee una fila de 15 casillas que pueden marcarse para controlar el número de usos. El tiempo máximo durante el que los tubos del control pueden permanecer destapados una vez cargados en el instrumento es 2,5 horas o 10 minutos por uso. Los controles destapados que permanezcan en el instrumento durante más tiempo deben desecharse. Si se utilizan los mismos tubos de control para más de 15 usos y/o durante más de 2,5 horas en total, pueden producirse resultados erróneos.

Bibliografía

1. Trier JS: Celiac Sprue: N Engl J Med 325: 1709-1719, 1991.
2. Strober W: Gluten-sensitive enterophy: A nonallergic immune hypersensitivity of the gastrointestinal tract. J Allergy Clin. Immunol. 78: 202-211, 1986.
3. McMillan SA, Haughton DJ, Biggart JD, et al.: Predictive value for coeliac disease of antibodies to gliadin, endomysium and jejunum in patients attending for jejunal biopsy. BMJ 303: 1163-1165, 1991.
4. Valdimarsson T, Franzen L, Grodzinsky E, et al.: Is small bowel biopsy necessary in adults with suspected celiac disease and IgA anti-endomysial antibodies? 100% positive predictive value for celiac disease in adults. Digestive Diseases and Science 41: 83-87, 1996.
5. Walker-Smith JA, Guandalini S, Schmitz J, et al.: Revised criteria for diagnosis of celiac disease: Report of working group of European Society of Pediatric Gastroenterology and Nutrition (ESPGAN). Arch Diseases of Childhood 65: 909-911, 1990.
6. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, et al.: Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. Nature Medicine 3: 797-801, 1997.
7. Sardy M, Odenthal U, Karpati S, et al.: Recombinant human tissue transglutaminase ELISA for the diagnosis of gluten-sensitive enteropathy. Clin Chem 45: 2142-2149, 1999.
8. Sblattero D, Berti I, Trevisiol C, et al.: Human recombinant tissue transglutaminase ELISA: an innovative diagnostic assay for celiac disease. Am J Gastroenterology 95: 1253-1257, 2000.
9. Marietta, EV, Camilleri, MJ, Castro, LA, et al.: Transglutaminase autoantibodies in dermatitis herpetiformis and Celiac Sprue. J Invest Dermatol 128: 332-335, 2007.
10. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories: Centers for Disease Control/National Institutes of Health, quinta edición, 2007.

Símbolos utilizados

Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

Consulte las instrucciones de uso

Límites de temperatura

No reutilizar

Riesgos biológicos

Código del lote

Número de catálogo

Utilizar antes del tiempo indicado

Fabricante

Contenido suficiente para n análisis

Control positivo

Control negativo

Calibrador 1

Calibrador 2

Caja de cartón reciclable

Mantener en esta posición

QUANTA Flash es una marca comercial de INOVA Diagnostics Inc. BIO-FLASH es una marca comercial registrada de Biokit SA © 2011

Fabricado por:
INOVA Diagnostics, Inc.
9900 Old Grove Road
San Diego, CA 92131
Estados Unidos de América

Servicio técnico (solo para EE. UU. y Canadá): 877-829-4745
Servicio técnico (fuera de EE. UU.): 00+ 1 858-805-7950
support@inovadx.com

Representante autorizado en la UE:
Medical Technology Promedt Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80
D-66386 St. Ingbert, Alemania
Tel.: +49-6894-581020
Fax: +49-6894-581021
www.mt-procons.com

621100ESP Julio 2011
Revisión 1